

---

# Informe final

## Información general

**Título del proyecto:** La cultura como fuerza evolutiva: ¿el aprendizaje de la canción aceleró la especiación en la especie de anillo del murciélago de líneas blancas (*Saccopteryx bilineata*)?”

**Tipo de permiso de acceso a los elementos o recursos genéticos y bioquímicos:**  
Investigación básica

**Nombre del interesado:** Dra. Martina Nagy

**Número de expediente:** 448

**Número de Resolución administrativa del permiso de acceso:** SAN JOSE, COSTA RICA R-017-2021- OT-CONAGEBIO

**Fecha de elaboración del informe:** 05.05.2024

## Introducción

El murciélago de líneas blancas (*Saccopteryx bilineata*) es una de las especies mejor estudiadas con respecto a su sistema social (p. ej. Voigt et al. 2008, Nagy et al. 2007, Nagy et al. 2012, Knörnschild et al. 2012, Knörnschild et al. 2017). Al igual que muchas especies de esta familia, la organización social del *S. bilineata* es muy compleja. Durante el día los individuos se encuentran en refugios ubicados en cavidades en árboles grandes, cuevas y paredes de edificios. Dentro de los refugios, los grupos individuales se encuentran organizados en harenes de hasta 8 hembras y sus crías, defendidos por un solo macho (Bradbury & Emmons 1974, Bradbury & Vehrencamp 1976). La comunicación social, en particular la exhibición y la defensa del harén de los machos, consiste en señales visuales, presentaciones de olor y sonidos complejos (“canciones”; Voigt 2002, Behr & Helversen 2004, Knörnschild et al. 2010). Una sola cría nace poco después de comenzar la época lluviosa. Sólo las madres se preocupan por las crías, que se independizan entre las 8 y 10 semanas (Bradbury & Emmons 1974).

Nuestros datos aún no publicados y recopilados durante un estudio en 2010 en Costa Rica (Proyecto: Dialectos Locales en los Vocalizaciones de los Murciélagos Listados, *Saccopteryx bilineata*, resolución 187-2009-SINAC) y un estudio en 2016 en Panamá (Permiso Científico No. SE/A-28-16, IACUC No. 2016-0627-2019) sugieren que este murciélago es una especie de anillo (“ring species”sensu Ernst Mayr 1942) que rodea la división continental de la cadena montañosa de las Américas. Una especie de anillo se forma cuando una población

---

ancestral expande su rango alrededor de una barrera inhabitable. Las dos poblaciones en expansión divergen gradualmente, acumulando diferencias genéticas y fenotípicas hasta que las formas terminales se aíslan reproductivamente en el contacto secundario (Mayr 1942, Coyne & Orr 2004).

Un análisis de componentes principales (PCA) en 9 loci de microsatélites de 16 poblaciones y 534 individuos muestra una variación genética gradual de la población ancestral en el centro de Panamá a lo largo de las poblaciones del Pacífico y el Caribe (datos no publicados). Esto da como resultado una diferenciación pronunciada de las formas terminales concurrentes en el noroeste de Costa Rica (i.e. en Guanacaste), que indica aislamiento reproductivo. El aislamiento reproductivo de las formas terminales está respaldado por varios rasgos fenotípicos, muchos de los cuales están sujetos a una fuerte selección sexual. El cambio gradual en el tamaño del cuerpo a lo largo de las poblaciones del Caribe hace que la forma terminal del Caribe sea considerablemente más pequeña que la forma terminal del Pacífico. Las canciones de los machos muestran una variación geográfica considerable alrededor del anillo y las formas terminales producen dialectos de canciones claramente diferentes. La evidencia de un experimento vocal (“playback”) muestra que las hembras de ambas formas terminales exhiben una fuerte fonotaxis a los dialectos de canciones locales y una fonotaxis reducida a los dialectos de canciones de una población adyacente. Lo que es más importante, las hembras no se sienten atraídas por los dialectos de canciones de la otra forma terminal del anillo, lo que indica que los dialectos de canciones constituyen barreras de dispersión que reducen el flujo de genes entre las poblaciones (datos no publicados).

Queríamos estudiar si la divergencia de la canción de los machos, causada por el aprendizaje de la canción y la transmisión cultural de los dialectos de la canción, puede acelerar la divergencia genómica y, en última instancia, la especiación. Específicamente, queríamos estudiar el impacto de los dialectos de canciones transmitidos culturalmente sobre la divergencia genómica en el murciélago de líneas blancas (*Saccopteryx bilineata*) en comparación con su especie hermana, el murciélago de sacos pequeño (*Saccopteryx leptura*). En contraste con su especie hermana, *S. leptura* no forma una especie de anillo en América Central y posee solo llamadas simples que no se aprenden.

### **Información sobre las muestras accesadas:**

- a) La información se encuentra en el documento:  
“Lista\_de\_muestras\_informe\_final\_CONAGEBIO\_Nagy”
- b) Hasta ahora, el proyecto no ha dado lugar a ninguna publicación. Por lo tanto, hasta la fecha no se han publicado datos de secuencias genómicas.
- c) Todas las muestras de tejido se destruyeron en el proceso de aislamiento del ADN. El ADN extraído se conserva en el Museo de Historia Natural de Berlín (Museum für Naturkunde, Berlin, dirección: Invalidenstraße 43, 10115 Berlin, Alemania).

---

Tenemos previsto continuar con los análisis del proyecto y seguir utilizando el ADN aislado para este fin. El contacto responsable es: Prof. Mirjam Knörnschild, Tel. 0049 30 889140 8795, [mirjam.knoernschild@mf.n.berlin](mailto:mirjam.knoernschild@mf.n.berlin).

Las muestras olfactivas fueron enviadas a la Universidad de Bielefeld (University of Bielefeld, Department of Animal Behaviour, PO Box 10 01 31, 33501 Bielefeld, Alemania). Las muestras olfactivas se están analizando actualmente en la Universidad de Bielefeld y se destruirán durante el proceso.

### **Resultados por objetivo:**

#### **a. Grabación de vocalizaciones sociales (Objetivo 1)**

Planeamos comparar la divergencia acústica de la canción transmitida culturalmente en el *S. bilineata* con la divergencia acústica en las llamadas sociales de una especie de control simpátrico que no es capaz de aprender vocalmente y de transmisión cultural (*S. leptura*). Por este objetivo se grabaron canciones y llamadas sociales en refugios diurnos del *S. bilineata* en La Finca Canas Castilla, Santa Rosa, Horizontes y en La Finca La America y del *S. leptura* en La Finca Canas Castilla y en la Finca La America. El análisis de las canciones y llamadas sociales está en fase de elaboración y aún no se ha terminado. Por lo tanto, la comparación prevista aún no ha finalizado.

#### **b. Experimentos de reproducción/playback con canciones del *S. bilineata* (Objetivo 2)**

Aún no se han llevado a cabo los experimentos de reproducción/playback con canciones del *S. bilineata*. Esto se debe al sorprendente descubrimiento de una zona híbrida. En un principio, esperábamos encontrar un claro aislamiento reproductivo entre los linajes del Pacífico y del Caribe. Sin embargo, nuestros resultados genómicos muestran que el flujo de genes desde el linaje del Caribe hacia el linaje del Pacífico es probablemente frecuente, y que la población de la zona híbrida es por tanto muy heterogénea en su composición genómica (véase también el texto sobre el objetivo 5). Por lo tanto, antes de poder diseñar experimentos de reproducción/playback significativas, debemos examinar primero los cantos de los machos e intentar relacionar cualquier diferencia en los cantos y el comportamiento de los machos con su grado de hibridación. Tenemos previsto hacerlo en un futuro próximo.

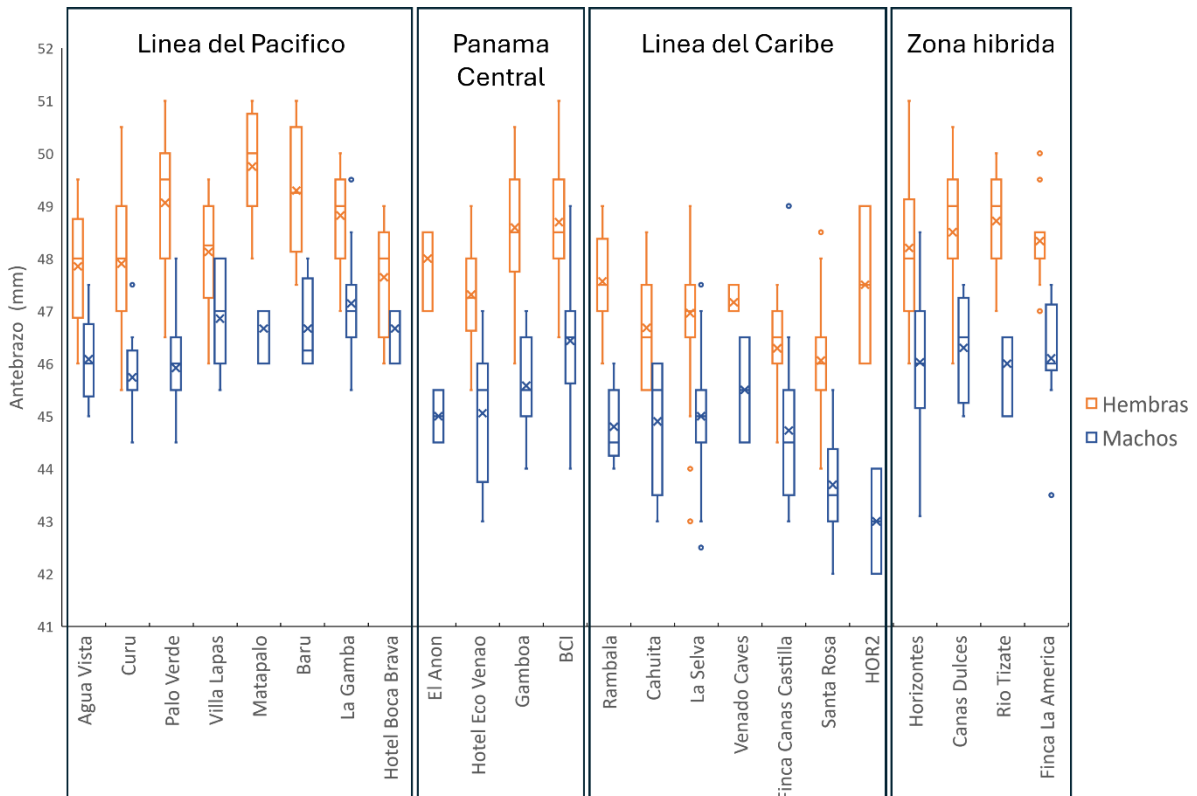
#### **c. Experimentos de reproducción con llamadas de ecolocación del *S. bilineata* (Objetivo 3)**

Aún no se han llevado a cabo los experimentos de reproducción/playback con llamadas de ecolocación del *S. bilineata*. El descubrimiento de la zona híbrida nos impidió inicialmente llevar a cabo estos experimentos, ya que considerábamos necesario investigar con más detalle las llamadas de ecolocalización en la zona híbrida para poder diseñar los playbacks de forma sensata. También nos dimos cuenta de que estos experimentos no podían llevarse a cabo con un dron como estaba previsto. A pesar de una intensa investigación, no

podimos encontrar un dron adecuado, ya que el sistema de propulsión de todos los modelos que conocemos emite, por desgracia, ruido en el rango ultrasónico (aprox. 40-50 kHz). Eso es una gama de frecuencias que se corresponde con las llamadas de ecolocalización del *S. bilineata* y que, por tanto, interferiría con nuestros experimentos de reproducción. Tenemos previsto realizar estos experimentos en un proyecto futuro y probablemente montaremos el altavoz ultrasónico en un poste largo sujeto a un coche.

**d. Análisis de rasgos fenotípicos entre las dos líneas del *S. bilineata* (Objetivo 4)**

Capturamos un total de 186 *S. bilineata* y tomamos medidas corporales para poder evaluar su afiliación a la Línea del Pacífico o a la Línea del Caribe. Los murciélagos de las poblaciones de Horizontes, Canas Dulces, Río Tizate y Finca La América mostraron tamaños corporales similares a los murciélagos medidos en la Línea del Pacífico del anillo (Figura 1). Los murciélagos capturados en Finca Canas Castilla y Santa Rosa mostraron tamaños corporales que son similares a los murciélagos que hemos medido en la línea del Caribe. Los machos capturados en la ubicación HOR2 tenían tamaños corporales similares a los de la línea del Caribe, pero una hembra era bastante grande y más similar a las hembras de la línea del Pacífico.



**Figura 1.** Tamaños del antebrazo de machos (boxplots azules) y hembras (boxplots naranjas) de *Saccopteryx bilineata* de poblaciones alrededor del anillo en Panamá y Costa Rica. Los *S. bilineata* muestreados como parte de este proyecto pertenecen a la zona híbrida y a la línea Caribe (poblaciones Finca Canas Castilla, Santa Rosa y HOR2) del anillo.

---

Tomamos un total de 27 muestras de olor de machos de *S. bilineata*. Estas muestras se están analizando actualmente en la Universidad de Bielefeld y esperamos tener pronto los resultados.

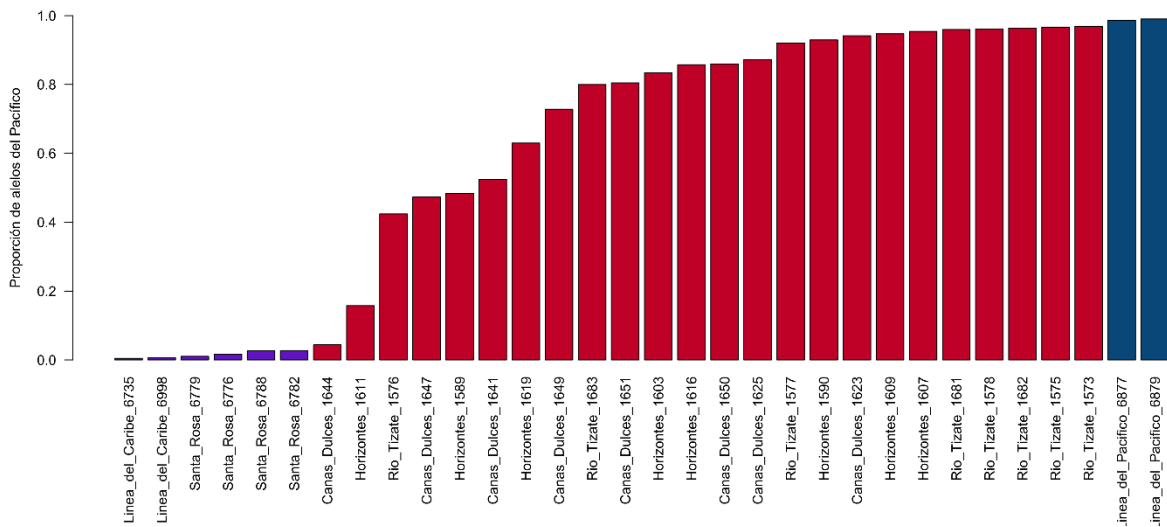
**e. Análisis de la divergencia genómica a lo largo del continuo de especiación alrededor del anillo en el *S. bilineata* y su especie hermana *S. leptura***

Tomamos muestras genéticas de 186 *S. bilineata*, 23 *S. leptura* y 23 *R. naso*. Se extrajo ADN de todas las muestras. Hasta la fecha hemos realizado la secuenciación del genoma completo de 36 de las 186 muestras de *S. bilineata*. Hasta ahora solo hemos podido llevar a cabo una proporción muy pequeña de los análisis genómicos previstos. Esto se debe a que el Museum für Naturkunde de Berlín tiene graves problemas con su tecnología de la información debido a un fallo de un servidor en junio de 2023 y a un ciberataque en octubre de 2023. Así pues, el clúster de alto rendimiento para los análisis genómicos no ha estado operativo durante casi un año y tiene que ser reinstalado debido al ciberataque. Por lo tanto, no hemos podido acceder a los datos genómicos durante casi un año y no hemos podido realizar más análisis. Esperamos poder continuar con nuestros análisis genómicos en los próximos meses.

Nuestros resultados hasta ahora muestran que los dos linajes genéticos de *S. bilineata* forman una zona híbrida en los alrededores de Horizontes y Canas Dulces. Los murciélagos capturados en la zona híbrida (Figura 2) muestran en general altas proporciones de ascendencia pacífica, pero también un número de individuos entre el 50% y el 80% aproximadamente de ascendencia pacífica, lo que sugiere híbridos de primera generación y retrocruzamientos tempranos. Esto apoya la introgresión en curso de la línea del Caribe en la línea del Pacífico. Los murciélagos de Santa Rosa (la población caribeña más cercana de la que hemos tomado muestras, a unos 5-10 km de distancia de las muestras de la zona híbrida) muestran niveles extremadamente bajos de ascendencia pacífica (<5%), lo que sugiere un flujo genético inexistente o muy raro desde el Pacífico hacia la población caribeña y un fuerte aislamiento reproductivo.



**Figura 2.** Mapa de los refugios de *S. bilineata* muestreados durante este proyecto. El mapa muestra la ubicación de los refugios, así como su afiliación a la línea del Caribe (rojo) o a la zona híbrida (verde), basándose en información genómica y/o fenotípica (tamaño del antebrazo).



**Figura 3.** Proporciones alélicas de los individuos capturados en la zona híbrida para los loci variantes que muestran diferencias fijas entre las poblaciones "puras" del Caribe y del Pacífico (para el andamio 8 del genoma de referencia de *S. bilineata*). Un alelo se considera "fijo" si es el único alelo para ese locus en la población (es decir, tiene una frecuencia de 1), mientras que el alelo alternativo (que puede existir en otras poblaciones) tiene una frecuencia de 0. Así pues, las diferencias fijas se producen cuando una población tiene el alelo A fijo y otra población tiene el alelo B fijo y pueden utilizarse como rasgo diagnóstico para, por ejemplo, delimitar dos especies. El gráfico muestra las proporciones de alelos fijos como proporción de alelos pacíficos. Así, los individuos puros de la línea del Pacífico muestran valores cercanos al 100% y los individuos puros de la línea del Caribe muestran una proporción cercana al 0%.

**f. Análisis de las regiones genómicas altamente diferenciadas que son exclusivamente diferenciadas en el *S. bilineata* en comparación con el *S. leptura* y el *Rhynchonycteris naso* (murciélago de trompa; como una especie de control de grupo externo).**

Aún no ha sido posible realizar estos análisis.

**Análisis general de los resultados y conclusiones**

En esta fase del proyecto aún no podemos analizar nuestros objetivos generales. Como se ha descrito para los objetivos individuales, aún no hemos podido empezar a recopilar datos para algunos objetivos y el análisis de datos aún no se ha completado para otros. Por lo tanto, en este momento todavía no podemos responder a la pregunta de si la transmisión cultural de dialectos de canciones en el *S. bilineata* puede contribuir al aislamiento reproductivo y, en última instancia, a la especiación. Lo que podemos decir por ahora es que los linajes del Pacífico y del Caribe no están completamente aislados reproductivamente en la zona donde entran en contacto. Nuestros datos muestran una

---

introgresión asimétrica desde el Caribe hacia el linaje del Pacífico y la existencia de una zona híbrida. Nuestros datos genómicos están respaldados por nuestros datos fenotípicos. Los *S. bilineata* de la zona híbrida tienen un fondo genómico predominantemente del Pacífico y también son fenotípicamente similares a los animales del linaje del Pacífico. En conclusión, el descubrimiento de la zona híbrida hace necesario estudiar más de cerca el comportamiento de *S. bilineata* de la zona híbrida y compararlo con individuos de poblaciones puras del Caribe y del Pacífico, así como estudiar la función del canto del macho en el aislamiento reproductivo en la zona híbrida y sus alrededores. Una pregunta importante que queremos responder en el futuro es, por ejemplo, por qué el flujo de genes del linaje del Pacífico al linaje del Caribe parece ser mucho menos frecuente y por qué el aislamiento reproductivo en esta dirección parece ser muy fuerte y, por último, qué papel juegan los cantos de los machos en esto.

### **Información sobre charlas, talleres u otras actividades de capacitación que se realicen como parte de la distribución no monetaria de beneficios.**

La información puede consultarse en los siguientes documentos:

- Informe de asesoría técnica científica o tecnológica
- Informe de cooperación con proyectos alineados a las prioridades del SINAC
- Informe sobre actividades de educación científica y técnica
- Informe sobre divulgación de información taxonómica, bioquímica, ecológica, agrícola, o de otro tipo

### **Actividades pendientes de desarrollar**

Teníamos previsto hacer una charla sobre los resultados de nuestro proyecto de investigación en el Parque Nacional Santa Rosa y una nota informativa sobre nuestra investigación en web site ACG. Lamentablemente, aún no hemos podido realizarla porque, todavía no hemos podido completar el análisis de datos. Tras el fallo de un servidor y el ciberataque al Museo de Historia Natural, Berlin, seguimos en “modo de emergencia” en el museo y, por lo tanto, sólo hemos podido llevar a cabo nuestro trabajo de forma muy limitada durante casi un año. No obstante, tenemos previsto ponernos al día con la charla y la nota prevista y concertaremos con el Sr. Roger Blanco.

Por supuesto, también tenemos previsto publicar nuestros resultados en publicaciones científicas. Por desgracia, aún no podemos estimar una fecha para ello, ya que todavía no sabemos cuándo nos será posible continuar con el análisis de los datos genómicos. El clúster informático del Museum für Naturkunde, Berlin sigue en reconstrucción debido a un ciberataque.

---

## **Bibliografia**

- Behr O & von Helversen O (2004) Bat serenades - complex courtship songs of the sac-winged bat (*Saccopteryx bilineata*). *Behav Ecol Sociobiol* 56: 106-115
- Bradbury JW, Emmons L (1974) Social organization of some Trinidad bats. Emballonuridae. *Z Tierpsychol* 36: 137-183.
- Bradbury JW, Vehrencamp SL (1976) Social organization and foraging in emballonurid bats. I: field studies. *Behav Ecol Sociobiol* 1: 337-381.
- Coyne JA, Orr HA (2004) *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Mayr E (1942) *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press, New York.
- Nagy M, Heckel G, Voigt CC, Mayer F (2007) Female-biased dispersal and patrilocal kin groups in a mammal with resource-defence polygyny. *Proceedings of the Royal Society B* 274: 3019-3025
- Nagy M, Knörnschild M, Voigt CC, Mayer F (2012) Male greater sac-winged bats gain direct fitness benefits when roosting in multimale colonies. *Behavioural Ecology* 23: 597-606
- Knörnschild M, Nagy M, Metz M, Mayer F, von Helversen O (2012) Learned vocal group signatures in the polygynous bat *Saccopteryx bilineata*. *Animal Behaviour* 84:761-769
- Knörnschild M, Blüml S, Steidl P, Eckenweber M & Nagy M (2017) Bat songs as acoustic beacons-male territorial songs attract dispersing females. *Scientific reports* 7 (1), 13918
- Knörnschild M, Nagy M, Metz M, Mayer F, von Helversen O. (2010) Complex Vocal Imitation during Ontogeny in a Bat. *Biology Letters* 6: 156-159
- Voigt, CC (2002). Individual variation in perfume blending in male greater sac-winged bats. *Animal Behaviour*, 63(5), 907-913.
- Voigt C, Behr O, Caspers B, von Helversen O, Knörnschild M, Mayer F, Nagy M (2008) Songs, scents, and senses: Sexual selection in the greater sac-winged bat, *Saccopteryx bilineata*. *J Mammal* 89: 1401-1410.